

ETIOLOGÍA E INCIDENCIA DE LAS ENFERMEDADES DE POSCOSECHA DE LA GRANADA EN LA ZONA DE ELCHE

Centre de Tecnologia Postcollita,
Institut Valencià d'Investigacions
Agràries (IVIA),
Apartat Oficial,
46113 Montcada, València
E-mail: palou_llu@gva.es

INTRODUCCIÓN

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en el Sudeste del país, principalmente en la zona de Elche, provincia de Alicante. La importancia de este cultivo a nivel mundial está aumentando debido a la creciente demanda por parte del consumidor de alimentos de alto nivel nutricional y terapéutico. Los arilos, parte comestible de la granada, se componen principalmente de semillas y zumo y tienen un alto contenido en azúcares, pectinas, ácido ascórbico, aminoácidos, minerales, fibras, fitoestrógenos y sobretodo flavonoides polifenólicos. La importante actividad antioxidante de la granada es bien conocida y numerosos estudios clínicos han demostrado que su consumo ayuda a prevenir enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer (Aviram *et al.*, 2000).

La granada es un fruto no climático que no madura fuera del árbol ni siquiera mediante tratamientos

con etileno y se debería recolectar cuando está totalmente maduro para asegurar un sabor óptimo. Actualmente, la industria de la granada en España está claramente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Algunos estudios indican que la variedad 'Mollar de Elche', el cultivar de granada más extendido en España, debería almacenarse a temperaturas de 5°C y humedades relativas (HR) del 90% o mayores para evitar pérdidas de peso y el desarrollo de daños por frío (escalado o decoloración marrón de la piel y/o picado superficial), que son los principales problemas que limitan la frigoconservación de la granada (Artés *et al.*, 2000). Sin embargo, el almacenamiento en estas condiciones puede favorecer el desarrollo de enfermedades de poscosecha si se compara con una conservación a temperaturas más bajas (0-1°C). Según el tipo y el momento de la infección, existen dos tipos de enfermedades de poscosecha, las causadas por patógenos de herida, que infectan el fruto en el campo o en poscosecha exclusivamente a través de microheridas o heridas visibles en la piel del fruto, y las causadas por patógenos latentes, que infectan las flores, los frutos jóvenes o los frutos maduros en el campo pero que permanecen inactivos o latentes hasta

que, debido a cambios físicos o fisiológicos en el fruto huésped o a cambios en las condiciones ambientales, se desarrollan en la fase de poscosecha. Por ejemplo, trabajos realizados en California con granadas 'Wonderful' almacenadas en atmósferas controladas y a temperaturas relativamente altas de 7,5°C mostraron que el período de almacenamiento pudo prolongarse hasta en ocho semanas más cuando la incidencia de infecciones latentes en la corona (cáliz que contiene los estambres y pistilos) del fruto fue baja y la fruta se seleccionó y clasificó cuidadosamente (sin lesiones mecánicas o síntomas de quemado por el sol en la piel) (Hess-Pierce and Kader, 2003). En California, las pérdidas debidas a la podredumbre gris, causada por el patógeno latente *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., llegaron a ser del 30% de la fruta recolectada cuando no se aplicó ningún fungicida en poscosecha (Tedford *et al.*, 2005). De hecho, estas pérdidas pusieron en peligro la viabilidad de la industria de la granada en California durante las campañas de 1999 a 2002 y revelaron la necesidad de la aplicación de tratamientos antifúngicos de poscosecha. Así, el fungicida de "bajo riesgo" fludioxonil (Scholar®, 50 WP, Syngenta Crop Protection Inc., Greensboro, NC, EE UU) fue aprobado por procedimiento de emergencia por las autoridades estadounidenses para su uso en

poscosecha de granadas en California desde 2001 a 2004 y ya está plenamente registrado desde el año 2005. Otros tratamientos antifúngicos alternativos como la integración del uso de aditivos alimentarios comunes como el sorbato potásico con el almacenamiento en atmósferas controladas se han evaluado recientemente contra el moho gris (Palou *et al.*, 2007).

El problema de la podredumbre gris en California es un ejemplo del enorme impacto que el desarrollo de podredumbres puede tener en la reducción de la vida útil de la granada en poscosecha. Además de *B. cinerea*, se han citado otros hongos causantes de podredumbres en poscosecha de granada en distintas zonas productoras, entre ellos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Nematospora* spp., *Coniella* spp., *Colletotrichum gloeosporioides* o *Pestalotiopsis versicolor*. La incidencia de enfermedades de poscosecha depende tanto de factores de precosecha (cultivar, clima, condiciones de crecimiento, etc.), como de la propia cosecha y de factores posteriores a la recolección (manejo, condiciones de almacenamiento, etc.). Por tanto, esta incidencia potencial debería determinarse específicamente para cada zona de cultivo pues muchos de estos factores presentan un marcado carácter local.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos

Granadas (*Punica granatum* L.) cv. 'Mollar de Elche' (sinónimo: 'Mollar') producidas comercialmente en dos parcelas diferentes de la zona de Elche (Alicante) se recolectaron en su madurez comercial y se transportaron a una cooperativa frutícola local. Posteriormente, la fruta se llevó al IVIA donde se seleccionaron

frutos sanos de un calibre medio y uniforme, se redistribuyeron aleatoriamente, y se utilizaron en los experimentos ese mismo día.

Determinación de patógenos de herida

Granadas intactas de las cajas de campo se hirieron mediante un punzón en cuatro puntos equidistantes de la zona ecuatorial. Cada fruto se colocó sobre una placa petri numerada y los frutos se introdujeron en cámaras húmedas. Estas cámaras (**Foto 1**) consistían en cajas de plástico de 5 L con tapa que habían sido previamente desinfectadas superficialmente pulverizándolas con etanol al 98%. Para permitir el intercambio de aire, las cajas se perforaron en dos paredes opuestas dejando unos orificios de 0,5 cm de diámetro. Antes de colocar los frutos, en el fondo de las cajas se habían colocado papeles absorbentes impregnados de agua. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20°C. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (16 heridas) (total de 32 frutos y 128 heridas por parcela).

El número de heridas infectadas en cada cámara se controló semanalmente durante 7 semanas. Los patógenos causantes de infecciones se reconocieron bien mediante inspección visual directa o después de ser sembrados en placas petri con medio patata dextrosa agar (PDA) e incubados a 25°C para su aislamiento y posterior identificación por sus caracteres macro y/o microscópicos. Salvo algunas excepciones, los hongos patógenos se identificaron a nivel de género.

Determinación de patógenos latentes

Granadas intactas procedentes

de cajas de campo se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en lejía diluida (0.5% hipoclorito sódico) durante 1 min, se aclararon intensamente con agua y se secaron con papel. Para evitar que el baño afectase a posibles patógenos latentes establecidos dentro de la corona del fruto, ésta se cubrió con cinta adhesiva antes de la desinfección de la fruta. Los frutos desinfectados se colocaron en placas petri estériles y se dispusieron dentro de cámaras húmedas tal y como se ha descrito anteriormente. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20°C. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (total de 32 frutos por parcela). Se anotó semanalmente el número de frutos infectados en cada cámara durante 7 semanas. Los patógenos causantes de las podredumbres se identificaron como se ha descrito anteriormente.

Determinación de podredumbres durante el almacenamiento en frío

Granadas que habían sido procesadas comercialmente en la central frutícola se llevaron al IVIA y se almacenaron a 5°C y 90% HR durante 7 meses. La manipulación en la central frutícola consistió en la selección manual de la fruta y el envasado en cajas de cartón de 50x30x10 cm con alveolos plásticos que impidieron el contacto entre frutos. No se aplicó ningún tratamiento de poscosecha de ningún tipo. Para cada campo se utilizaron 4 cajas comerciales (repeticiones), cada una con 12 granadas (total de 48 frutos por campo). Cada dos semanas se controló el número de frutos infectados en cada caja, identificándose los patógenos causantes de podrido tal y como ya se ha descrito.

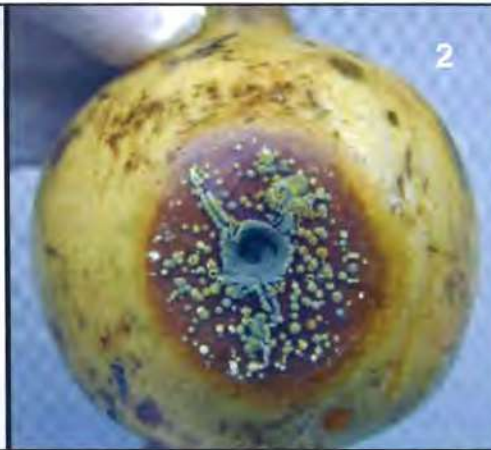


1a



1b

Foto 1.
Cámaras húmedas.



2



3

Foto 2. Granadas infectadas por *Penicillium expansum* (1), *P. sclerotiorum* (2) y *P. glabrum* (3).



3a



3b

Foto 3.
Granada infectada por
Botrytis cinerea.



Foto 4. Granada infectada por
Aspergillus niger.



Foto 5. Granada infectada por
Pilidiella granati.



Foto 6.
Estambres de
granada infectados
por *Penicillium* sp.



Foto 7.
Granada infectada
por *Mycosphaerella
buckinghamiae*.

RESULTADOS

Después de 2 semanas de incubación a 20°C, la incidencia total de infecciones de herida (podridos causados por cualquier patógeno) fue de un 10 y 20% en granadas 'Mollar de Elche' de las parcelas 1 y 2, respectivamente. Después de 7 semanas, la incidencia aumentó hasta un 30 y 60%, respectivamente (**Fig. 1**). Diferentes especies del género *Penicillium* fueron los agentes causantes de infecciones de herida más importantes; su frecuencia relativa fue del 70-75% de los frutos en ambos campos después de 7 semanas de incubación (**Fig. 4A**). Especies de este género aisladas en estos ensayos se han identificado como *P. expansum*, *P. sclerotiorum*, *P. glabrum* y *P. minioluteum*. Ensayos de patogenicidad con estos hongos han indicado que mientras las especies *P. expansum*, *P. sclerotiorum* y *P. glabrum* cumplen los postulados de Koch y, por tanto, son efectivamente patógenos de la granada (**Foto 2**), la especie *P. minioluteum* no causa enfermedad. *B. cinerea* (**Foto 3**) y *Aspergillus niger* van Tiegh (**Foto 4**) fueron otros patógenos causantes de podredumbre identificados.

La incidencia total de infecciones latentes (podridos causados por cualquier patógeno) se incrementó continuamente durante las 7 semanas de incubación a 20°C y alcanzó un 65-75% de las granadas de los dos campos al final del período de incubación. Esta pauta fue básicamente debida a la seguida por las infecciones causadas por *B. cinerea*, que en general fue el principal patógeno causante de podredumbres. También se observó un número creciente de infecciones de *Penicillium* spp. Además, en los frutos de la parcela 1 la incidencia de podridos por *A. niger* fue alta (10-20%) y permaneció prácticamente

Fig. 1. Incidencia de enfermedades de poscosecha causadas por patógenos de herida en granadas 'Mollar de Elche' heridas artificialmente e incubadas a 20°C durante 7 semanas.

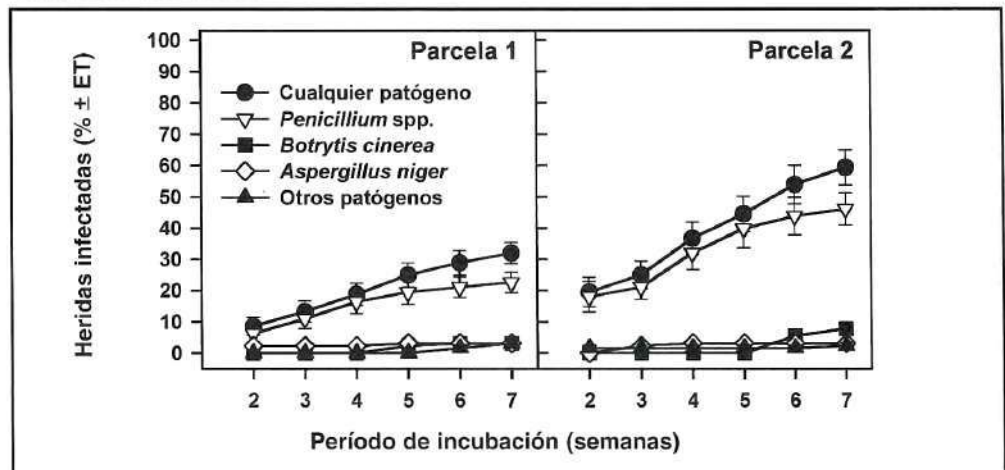
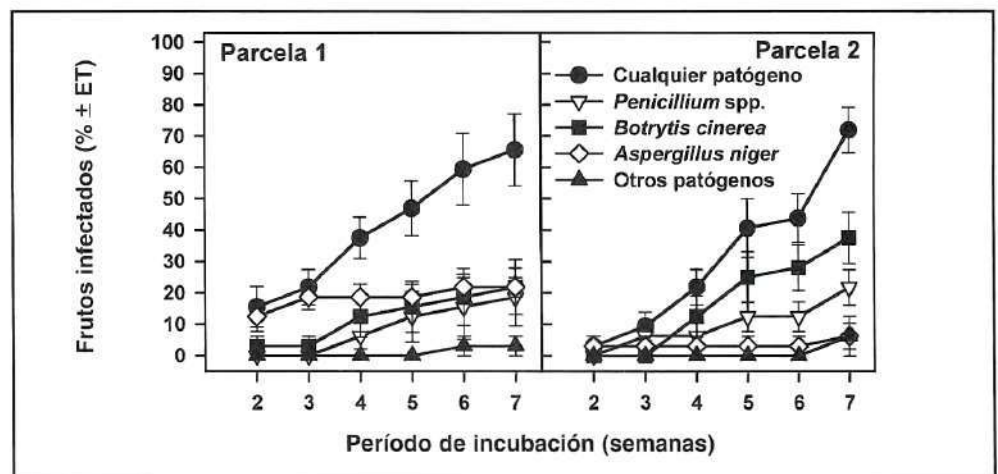


Fig. 2. Incidencia de enfermedades de poscosecha causadas por patógenos latentes en granadas 'Mollar de Elche' desinfectadas superficialmente e incubadas a 20°C durante 7 semanas.



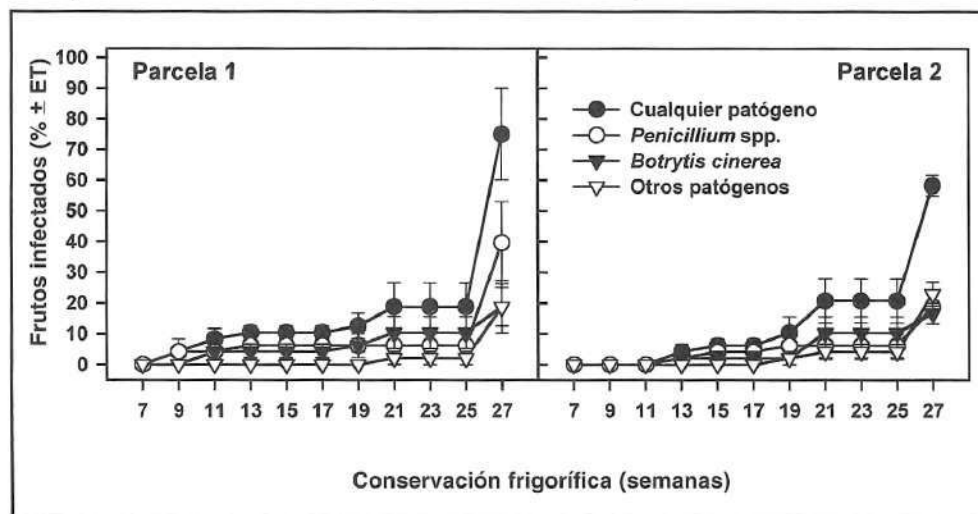
constante durante todo el período de incubación (**Fig. 2**). En los frutos de este campo, la frecuencia relativa de este hongo al final del período de incubación fue tan alta como la de *B. cinerea* (**Fig. 4B**).

La incidencia total de podridos en las granadas almacenadas en frío fue del 10% o menor durante las primeras 17 semanas de almacenamiento a 5°C (4 meses aproximadamente). La incidencia aumentó a un 20 y 60-75% tras 21 y 27 semanas de almacenamiento, respectivamente (**Fig. 3**). De nuevo, *B. cinerea* y *Penicillium* spp. fueron los patógenos más frecuentes durante todo el período de almacenamiento,

pero en este caso la frecuencia relativa de otros patógenos fue más alta que en la fruta incubada a 20°C (**Fig. 4C**).

Otros patógenos causantes de podredumbre, aunque con una incidencia sensiblemente menor, fueron identificados como *Pilidiella granati* (sinónimo: *Coniella granati*; **Foto 5**), *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., o *Alternaria* sp. Se observaron infecciones de *Penicillium* spp. en los estambres de muchos frutos, especialmente de aquellos incubados a 20°C (**Foto 6**).

Fig. 3. Incidencia de enfermedades de poscosecha en granadas 'Mollar de Elche' manipuladas comercialmente y almacenadas a 5°C y 90% HR durante 7 meses.

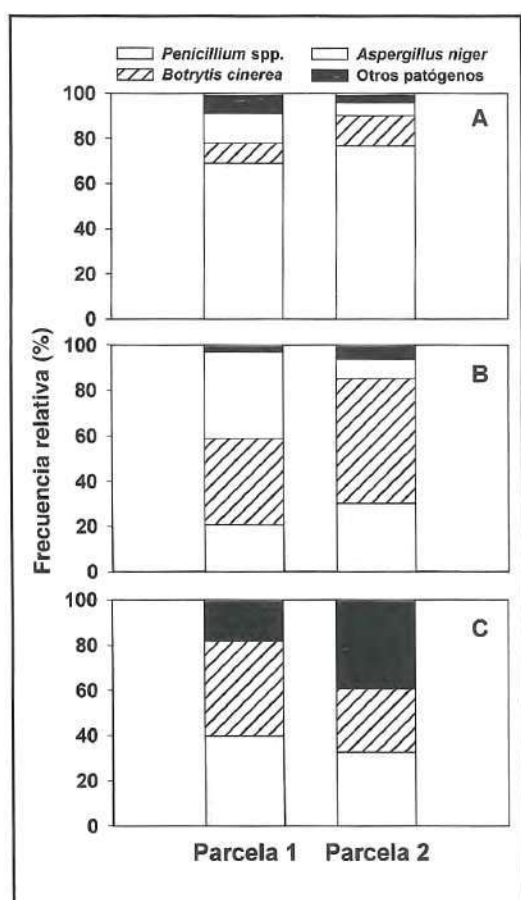


La patogenicidad del hongo *B. cinerea* en granadas, causando la enfermedad conocida como podredumbre gris, se ha descrito en muchas zonas productoras de todo el mundo. Como se muestra en este trabajo, la enfermedad puede originarse tanto por infecciones latentes como de herida. Las esporas y fragmentos de micelio que contaminan la superficie del fruto pueden infectarlo a través de grietas o heridas en la piel, pero los podridos originados por infecciones latentes establecidas en la fruta antes de su recolección son normalmente más frecuentes. En estos casos, el patógeno infecta las flores o la corona de frutos jóvenes, permanece latente y, una vez el fruto ha sido recolectado, se extiende desde la corona al resto del mismo. Se ha propuesto denominar a esta forma particular de podredumbre gris de poscosecha como podredumbre de corona por botrytis (Palou, *et al.*, 2007). Además, *B. cinerea* puede producir 'nidos' de podredumbre en granadas almacenadas por contacto miceliar entre frutos adyacentes. Estos 'nidos' pueden aparecer incluso en frutos almacenados en frío porque el patógeno es capaz de crecer, aunque lentamente, a temperaturas tan bajas como 0°C. En este estudio, la podredumbre de corona por botrytis fue la enfermedad más frecuente en granadas almacenadas a 5°C, aunque su incidencia durante los 4 primeros meses de almacenamiento en frío fue más baja que la encontrada en las granadas 'Wonderful' en California (Tedford *et al.*, 2005; Palou *et al.*, 2007). Esto puede deberse a diferencias varietales en la susceptibilidad y/o a condiciones medioambientales distintas. Las infecciones primarias y secundarias de *Penicillium* llegaron a ser especialmente significativas hacia el final del período de almacenamiento en frío, cuando la mayor parte de los frutos estaban sobremaduros, des-

DISCUSIÓN

Aunque en algunos estudios se ha citado a especies de *Penicillium* no identificadas como la causa de podrido en granada (Kanwar and Thakur, 1972; Artés *et al.*, 2000), en otros casos el patógeno fue identificado como *P. expansum* (Kanwar y Thakur, 1972), *P. digitatum* (Salunkhe y Desai, 1984) o *P. implicatum* (Labuda *et al.*, 2004). Estos autores también encontraron cepas de *P. glabrum*, *P. minioluteum*, *P. implicatum* y *P. erythromellis* en estambres visiblemente llenos de moho en la corona de granadas obtenidas de un mercado en Eslovaquia y procedentes de España. Los autores argumentaron que los estambres podrían ser una fuente de infección que se extendería al resto del fruto en caso de haber vías de entrada como heridas, golpes o rozaduras. Teniendo en cuenta que *Penicillium* spp. son patógenos de herida estrictos, este tipo de infección podría explicar parcialmente la elevada incidencia de *Penicillium* que observamos en los ensayos de patógenos latentes. No obstante, creemos que la causa principal fue la contaminación por parte de *Penicillium* spp. de infecciones primarias causadas por otros hongos.

Fig. 4. Frecuencia relativa de patógenos causantes de enfermedades de poscosecha en granadas 'Mollar de Elche' heridas artificialmente (A) o desinfectadas superficialmente (B) e incubadas a 20°C durante 7 semanas, o almacenadas a 5°C durante 27 semanas (C).



hidratados, y presentaban obvias y frecuentes grietas en la piel.

Se han observado varias especies del género *Aspergillus* como causantes de podredumbre de poscosecha en granadas. Concretamente, *A. nidulans*, *A. clavatus* y *A. niger* han sido citados en trabajos realizados en la India como causantes de las enfermedades denominadas podredumbre por aspergillus, podredumbre interna y podredumbre negra, respectivamente (Kanwar and Thakur, 1972). *A. niger* se ha descrito como un patógeno de herida asociado al agrietado de la piel que también suele causar infecciones secundarias en fruta no almacenada en frío y además puede encontrarse infectando los estambres de la granada (Labuda *et al.*, 2004). Dado que se sabe que la desinfección superficial con cloro no es efectiva contra patógenos situados dentro de heridas de la corteza, la inesperada alta incidencia de *A. niger* en granadas de la parcela 1 desinfectadas superficialmente podría deberse a la presencia de cantidades importantes de conidios del hongo en el ambiente de ese campo, que colonizaron microheridas de la piel de los frutos imposibles de ver a simple vista.

Es importante destacar que, al margen de estos ensayos, en la campaña del año 2008 apareció en distintos almacenes de la zona de Elche una proporción importante de granadas 'Mollar de Elche' afectadas por abundantes manchas oscuras no muy grandes y de forma elíp-

tica (**Foto 7**). Tras un proceso de aislamiento e identificación a nivel tanto morfológico como molecular por el servicio de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Universitat de València), se concluyó que los frutos estaban infectados por el hongo *Mycosphaerella buckinghamiae*. Este patógeno de campo, clasificado anteriormente también como *Cercospora punicea*, infecta principalmente las hojas causando manchas foliares, pero en años excepcionalmente húmedos con elevada pluviometría puede infectar también los frutos desarrollando síntomas que, debido a un período de latencia, no resultan visibles en el momento de recolección pero aparecen posteriormente en la central frutícola (Burnett, 1963).

Este trabajo constituye un primer paso para determinar las enfermedades de poscosecha de granada más importantes en España. Esta información puede resultar muy útil para nuestra industria de la granada porque si se logra prolongar el almacenamiento de los frutos y se alarga así el período de comercialización, presumiblemente aumentará de forma significativa la incidencia de podredumbres de poscosecha. En ese caso, se requerirá la adopción de métodos de control para minimizar las pérdidas económicas potenciales. A diferencia de lo que ocurre en otras zonas productoras como California, actualmente no se permite en España el uso en poscosecha de granadas de fungicidas químicos de síntesis. Por tanto, debería enfatizarse la evaluación de

tratamientos antifúngicos alternativos en el contexto de un control integrado de enfermedades.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC; proyecto AGL2004-05271/AGR) y la Unión Europea (Programa FEDER). Agradecemos la colaboración de la cooperativa Cambayas Coop. V. (Elche, Alicante).

Bibliografía

- Artés, F., Tudela, J.A., Villaescusa, R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biol. Technol.* 18: 245-251.
- Aviram, M., Dorenfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Hayeck, T., Presser, D., Fuhrman, B. 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 1062-1076.
- Burnett, H.C. 1963. Leaf blotch and fruit spot of pomegranate. Florida Dept. Agric., Div. Plant Industry, Plant Pathol. Circular 18.
- Hess-Pierce, B., Kader, A.A. 2003. Responses of 'Wonderful' pomegranates to controlled atmospheres. *Acta Hort.* 600: 751-757.
- Kanwar, Z.S., Thakur, D.P. 1972. Post-harvest fungal diseases of pomegranate in Haryana. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 2: 189-191.
- Labuda, R., Hudec, K., Piecková, E., Mezey, J., Bohovic, R., Mátéová, S., Lukác, S.S. 2004. *Penicillium implicatum* causes a destructive rot of pomegranate fruits. *Mycopathologia* 157: 217-223.
- Palou, L., Crisosto, C.H., Garner, D. 2007. Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of 'Wonderful' pomegranates. *Postharvest Biol. Technol.* 43: 133-142.
- Salunkhe, D.K., Desai, B.B. 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits*, Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Tedford, E.C., Adaskaveg, J.E., Ott, A.J. 2005. Impact of Scholar (a new post-harvest fungicide) on the California pomegranate industry. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2005-0216-01-PS. www.plantmanagementnetwork.org

GUÍA PRÁCTICA DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS. EDICIÓN 2010. Autor: J.I. YAGÜE Y A. YAGÜE. 416 págs. Fotos color

GRANDES APARTADOS: Tablas de productos autorizados para cada cultivo. Descripciones de las materias activas: para cada formulado aparecen detalladas: composición, tipo de formulación, aplicaciones autorizadas, modo de empleo, clasificación toxicológica y todos los productos comerciales existentes en el mercado precisando nombre, casa comercial, titular/comercializador del producto y número de registro. Límites máximos de residuos (LMRs). Nombres de los cultivos en diez idiomas. Normativa sobre información toxicológica y sobre textos que han de aparecer en las etiquetas. Catálogo de productos de cada empresa (índice de productos por casas comerciales). Índice cruzado de materias activas y nombres comerciales.

Toda la obra está realizada a partir de las hojas de registro de cada producto emitidas por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Entre otras, pueden realizarse las siguientes consultas:

Formulados y productos comerciales disponibles para cada cultivo y aplicación - Características de un determinado formulado o producto comercial - Formulados que incluyen en su composición una determinada sustancia activa - Catálogo de productos registrados por una determinada empresa - Límite Máximo de Residuos (LMR) de una determinada sustancia activa para una información toxicológica.

P.V.P. 45 €- (Envíos contra reembolso. I.V.A. incluido. Gastos de envío aparte). PARA PEDIDOS: EDICIONES L.A.V., S.L. Tel.: 96/ 372 02 61 - pedidos@edicioneslav.com